Die Knochenmarkswirkung der Leberteilstoffe Xanthopterin und l-Tyrosin im Typhusanämietest

Zugleich ein Beitrag zur Eignung der Elektrocollargol-Saponinanämie als Test für den Antiperniciosastoff

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt am 15. April 1938

von

Georg Loeb
aus Dresden

1938

Verlag M. Dittert & Co., Dresden A 16, Pfotenhauerstraße 28-30

Dekan: Prof. Dr. W. Krantz.

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Straub.

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Juni 1938.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung.

Die gegenwärtige Kenntnis vom Vorhandensein und von der Funktion des Antiperniciosastoffes 5

II. Die heutigen Kenntnisse von der chemischen Natur des Antiperniciosastoffes 7

III. Kurze Übersicht über die zur Zeit bekannten Testmethoden für den Antiperniciosastoff. Aufgabenstellung . . 9

IV. Versuchsergebnisse.

1. Die Brauchbarkeit der Saponin-Elektrocollargolanämie als Test für den Antiperniciosastoff 13

2. Die Wirkung des Xanthopterin und l-Tyrosin auf die experimentelle Typhusanämie des Kaninchens . . 16

a) Kontrollversuche zur Typhusanämie: praemortale Reticulocytenkrise 19

b) Die Wirkung des Xanthopterins auf die Typhusanämie 20

c) Die Wirkung des l-Tyrosin auf die Typhusanämie 22

d) Die Wirkung kombinierter Xanthopterin- und Tyrosingaben auf die Typhusanämie 22

3. Die Rolle des hohen l-Tyrosingehaltes der Leber . . 23

V. Zusammenfassung 28

Schrifttumsverzeichnis 29

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154024_0374

I. Einleitung.

Die gegenwärtige Kenntnis vom Vorhandensein und von der Funktion des Antiperniciosastoffes.

Ein Jahrzehnt ist vergangen, seit Minot und Murphy 1927 in der Rohleberdiät das Heilmittel der Biermerschen oder Perniciösen Anämie fanden. In diesen letzten 10 Jahren konnte die Heilwirkung der rohen Leber bei fast sämtlichen Anämieformen auf eine Reihe ganz verschiedener je nach der vorliegenden Blutkrankheit beanspruchter Teilstoffe zurückgeführt werden. Als solche Stoffe wurden die reichlich in der Leber enthaltenen Vitamine, die Aminosäuren, die vom Körper nicht selbst aufgebaut werden können, und die bei der Blutfarbstoffsynthese eine Rolle spielen wie Histidin und Tryptophan, der reichliche Blut- und Gallenfarbstoff-, sowie der Kupfer- und Eisengehalt des Organs erkannt. Keiner dieser Wirkstoffe erwies sich jedoch als identisch mit dem durch die Castleschen Experimente 1929 entdeckten „Antiperniciosastoff", der, obwohl ohne Wirkung bei sämtlichen nichtperniciösen Anämien, bei der Biermerschen Anämie seine einzigartige Heilkraft beweist.

Im Verlauf der Jahre 1929—1931 ist es Castle gelungen, die Entstehung und Funktion des Antiperniciosastoffes weitgehend zu klären: er wird aus einem besonders in eiweißreichen Nahrungsmitteln enthaltenen Faktor (extrinsic factor) und einem Magenferment (intrinsic factor, Hämopoitin) im Magen gebildet, dort und in den oberen Dünndarmabschnitten resorbiert und hauptsächlich in der Leber, analog etwa der Glykogenspeicherung, gestapelt, um nach Bedarf den Blutbildungsstätten im Knochenmark zuzufließen. Diese Anschauung von extrinsic und intrinsic factor als notwendigem Ausgangsmaterial des Antiperniciosastoffes bleibt vorerst auch weiterhin gültig, da sich die Versuche von Greenspon und Morris, die die Existenz des extrinsic factor leugneten, bei Nachuntersuchungen (Ungley, Moffelt)[1]) als nicht beweisend erwiesen haben. Castle zeigte, daß dem an Biermerscher Anämie erkrankten Menschen neben den anderen Magenfermenten (Achylia gastrica) vor allem der intrinsic factor fehlt, und daß bei den in der Schwangerschaft, bei Botriocephalus-latus Intoxikation und bei Kranken mit Dünndarmstenosen zuweilen auftretenden symptomatischen perniciösen Anämien entweder ebenfalls

die Produktion des intrinsic factors eingestellt ist (Gravidität) oder die Resorption des Antiperniciosastoffes aufs schwerste gestört ist, daß es also nur beim Fehlen des Antiperniciosastoffes zum typischen Bild der hyperchromen Anämie mit Leuko-, Thrombo- und Reticulocytopenie und der megalocytären Umwandlung der roten Blutzellen kommt.

II. Die heutigen Kenntnisse von der chemischen Natur des Antiperniciosastoffes.

Obwohl die Entstehung und das weitere Schicksal des Antiperniciosastoffes seit Castle weitgehend bekannt sind, ist seine chemische Struktur bis heute noch nicht erkannt: ein Problem, das Forschung und Klinik in gleichem Maße interessiert. Die Rohleberdiät stößt nur zu oft bei den schwerer kranken Perniciosapatienten auf stärkste Abneigung; die tägliche Beschaffung genügender Lebermengen ist nicht überall möglich, und die bisher vorhandenen parenteral zuführbaren starkkonzentrierten Leberextrakte schmerzen noch bei intramuskulärer Darreichung, sind außerdem reich an Ballaststoffen, und die Menge des jeweils verabfolgten Antiperniciosastoffes wird wahrscheinlich viel zu hoch gewählt, da eine Eichung der Leberextrakte bis zur Gegenwart nur am kranken Menschen möglich ist, ein Verfahren, das am wechselnden Krankengut und am Interesse der einzelnen Kranken seine schnelle Grenze findet, besonders, sobald es sich für die Forschung um Erprobung neuer, vielleicht unwirksamer oder u. U. isoliert auch schädlicher Leberteilstoffe handelt.

In den letzten Jahren ist auf verschiedensten Wegen versucht worden, den Antiperniciosastoff chemisch rein darzustellen: ein Teil der Forscher bemühte sich, zuerst wenigstens die chemische Natur des extrinsic factor zu erkennen. Es wurde eine Zeitlang angenommen, daß er das Vitamin B_2 sei, das seinerseits mit dem in der Leber reichlich vorhandenen Lacto- oder Hepatoflavin identisch ist. Versuche von Stare und Thompson[2]) und Ashford und Klein[3]) an Perniciosakranken widerlegten diese Anschauung. Zweitens zeigten Versuche von Tochowicz[4]), daß der Antiperniciosastoff nicht mit den für den Blutaufbau wichtigen Aminosäuren Tryptophan oder Histidin identisch ist, obwohl anfänglich bei der perniciösen Anämie ein Mangel an diesen Stoffen behauptet worden war. Schließlich gingen Bemühungen dahin, den Antiperniciosastoff selbst aus der Gesamtleber zu isolieren und chemisch darzustellen.

Dabei gelang es 1935 den Amerikanern Subbarow und Jacobson[5]) aus sicher antiperniciosastoffhaltiger Leber drei Stoffe zu isolieren, deren Gesamtheit sie nach ihren Erfahrungen am Meerschweinchentest von Jacobson und an der nur regionär zu reproduzierenden experimentellen Sprue der Hunde (Black tongue-Krankheit) als den Antiperniciosastoff hinstellen zu können glauben. Es handelt

sich um einen Teilstoff A, den sie mit l-Tyrosin identifizierten und dem sie 50% der Wirksamkeit des Antiperniciostoffes zuschrieben, um den Teilstoff B, der ein nicht näher definiertes Polypeptid ist, und den Teilstoff C, der ein komplexes Purin darstellt, und der mit dem von Wieland und Schöpf erstmalig beschriebenen, aus gelben Schmetterlingsflügeln gewonnenen Farbstoff Xanthopterin nahe verwandt, nach neuerer Forschung mit ihm identisch ist. Diese Teilstoffe entfalten zwar auch einzeln eine Wirkung auf das Knochenmark der Versuchstiere, die Vollwirkung des Antiperniciosastoffes wird jedoch nach Subbarow und Jacobson erst durch kombinierte Gaben der drei Faktoren erreicht.

Gleichzeitig und unabhängig wurden die gleichen Leberteilstoffe auch in Deutschland gefunden: so konnte Koschara[6,7]) einen mit dem Teilstoff C der Amerikaner identischen Farbstoff aus der Leber und aus Menschenharn, deshalb von ihm Uropterin genannt, gewinnen. Schließlich haben Tschesche und Wolf[8]) diesen Farbstoff ebenfalls unabhängig aus Leber isoliert; sie haben mit gleichem Erfolg wie die Amerikaner dessen homöopathische Wirksamkeit am Milchanämie-Rattentest Rominger-Bomskovs festgestellt. In der Folge hat noch Kramer[9]) am Singerschen Rattentest ebenfalls eine starke Knochenmarksreizkraft des Xanthopterins nachgewiesen.

Nachuntersuchungen sind in letzter Zeit auch mit dem l-Tyrosin angestellt worden: Grenningloh[10]) fand eine starke Knochenmarksreizwirkung dieses Stoffes sowohl am Milchanämie-Rattentest als auch am Singerschen Rattentest, eine Wirksamkeit, die durch Kombination des l-Tyrosin mit Xanthopterin in über eine Addition hinausgehendem Maße gesteigert wurde. Die bedeutsame Rolle des l-Tyrosin der Leberpräparate wird weiter durch neue Versuche von Jacobs[11]), der durch Einwirkung von Tyrosinase auf l-Tyrosin einen Farbstoff herstellte, der mit dem Farbstoff der Leberextrakte identisch sein soll, unterstrichen.

Die perniciöse Anämie kommt an Tieren nicht vor und allen bisher bei der Prüfung dieser Stoffe verwandten Tiertesten fehlt leider die letzte Beweiskraft. Es ergab sich daher die Notwendigkeit, dieselben Leberteilstoffe noch einmal an zwei im letzten Jahr beschriebenen, nach Meinung der Autoren für den Antiperniciosastoff spezifischen Tieranämien, der Elektrocollargol-Saponinanämie nach Gottlebe[12]) und der Typhustoxinanämie nach Wolf, Kröger und Weber[13]) zu erproben, bevor man an die bis heute einzig beweisende Prüfung der Stoffe am Perniciosakranken gehen kann.

III. Kurze Übersicht über die zur Zeit bekannten Testmethoden für den Antiperniciosastoff.

Aufgabenstellung.

Die Berechtigung, die Beweiskraft aller bisher als Antiperniciosastofftest angegebenen Tierversuche anzuzweifeln und neue Untersuchungsmethoden einzuführen, ergibt sich eindeutig bei der Durchsicht des Schrifttums bezüglich der in dieser Richtung gemachten Anstrengungen. Dabei lassen sich fünf Wege unterscheiden, auf denen man das Ziel des spezifischen Testes zu erreichen versucht hat.

1. Bestrebungen, eine neue für den Antiperniciosastoff spezifische Blutreaktion am normalen Tier zu finden.

2. Bemühungen, eine solche Reaktion bei hypochromen, regenerativen, sog. sekundären Tieranämien zu entdecken.

3. Experimente, die bekannten symptomatischen perniciösen Anämien (Gravidität, Botriocephalus-latus Intoxikation und Dünndarmstenosen bei prädisponierten Personen) im Tierversuch nachzuahmen.

4. Methoden, die in der Wirkung der Leberextrakte auf Blutzucker, Glykogen, Erythrocytendurchmesser, Haemoglobinresistenz, Diurese und Porphyrinhaushalt zuverlässige Indikatoren für Vorhandensein oder gar Menge des Antiperniciosastoffes zu finden suchen.

5. Versuche, eine spezifische Reaktion an künstlich erzeugten hyperchromen „perniciosaähnlichen" Anämien zu erhalten.

Unter die erste Gruppe fallen die Versuche, in der durch Leberzufuhr auslösbaren krisenhaften Ausschwemmung jugendlich-vitalgranulierter Erythrocyten vom Knochenmark ins Blut normaler Tiere („Reticulocytenkrise"), eine für den Antiperniciosastoff spezifische Knochenmarksantwort zu finden. Solche Reaktionen sind am Meerschweinchen von Jacobson und an der erwachsenen Ratte von Singer[14]) beschrieben worden. Der Meerschweinchentest Jacobsons war in den letzten Jahren Gegenstand zahlreicher Nachprüfungen, die leider einen Mangel an Spezifität und eine Inkonstanz der Reaktion ergaben. So konnte Mermod[15]) mit Kongorotinjektionen die Reticulocytensteigerung auslösen, obwohl dieser Stoff sicher nichts mit dem Antiperniciosastoff zu tun hat und bei der menschlichen Perniciosa niemals eine therapeutische Wirkung mit quantitativer und vor allem qualitativer Remission des Blutbildes hervorzurufen vermag.

(Lendvai).[16]) Während Hummel[17]) die Befunde Jacobsons bestätigt, wird von Bachrach und Fogelson[18]) behauptet, daß Spontanreaktionen und häufiger negativer Ausfall trotz Zufuhr wirksamer Leberpräparate, die Ergebnisse des Meerschweinchentestes völlig unverwertbar mache. Auch an Singers Rattentest ist lebhaft Kritik geübt worden — schon Singer[19]) schränkt mit Cario und Gebhardt seine Verwertbarkeit von vornherein auf den Nachweis des endogenen Antiperniciosastoff-Anteils im Magensaft ein, da er für die Austestung von Leberpräparaten zu unspezifisch ist. Außerdem fanden die Italiener Crosetti und Bajardi[20]) ein Versagen der Reaktion in 27—35% ihrer Nachuntersuchungen.

Die zweite Gruppe zeigt den wohl am häufigsten versuchten Weg, der aber bei der vielfachen Besserungsmöglichkeit sekundärer Anämien durch Behandlung mit Vitaminen, Blutfarbstoffteilen, gewissen Aminosäuren und Eisen, ja sogar durch Knochenmarksreizstoffe, wie Arsen und Kongorot, niemals geeignet sein kann, aus der Fülle der antianämisch wirksamen Leberteilstoffe den antiperniciösen Faktor herauszufinden. Die Bedeutung der Reticulocytenkrise als unspezifisches Anzeichen einer akut einsetzenden Mehrleistung des Knochenmarkes bei jeder in Remission befindlichen Anämie, ist von v. Boros[21]) eindringlich dargelegt; sie kann auch hier niemals allein als spezifisches Zeichen für das Vorhandensein des Antiperniciosastoffes gedeutet werden. Diese Einschränkungen machen die Versuchsanordnung Whipples, Robscheit-Robbins und Hoopers, die als erste die antianämische Wirksamkeit der Leber an der Hämoglobinzunahme durch Entblutung und Mangeldiät anämisierter Hunde feststellten und so Minot und Murphy zur Einführung der Leberdiät in die Therapie der perniciösen Anämie veranlaßten, für Antiperniciosastofftestversuche unverwertbar. Dieselben Gründe haben zahlreiche weitere Bemühungen, durch Entblutung oder Vergiftung spezifische Testanämien zu erzeugen, zum Scheitern gebracht. So blieben die Versuche mit Toluylendiamin-, Pyrodin- und Anilinvergiftung ohne Ergebnis (Gottlebe)[26]), und die sonst perniciosaähnliche Mangeldiätanämie junger mit Ziegenmilch ernährter Ratten (Rominger-Bomskov)[23]), durch ihre Reticulocytose doch als sekundäre Anämie gekennzeichnet, läßt sich ebenfalls durch Eisen und Kupferzulagen genau wie durch Leber bessern (Wolf, Tschesche).[8])

Auch die Bestrebungen der 3. Gruppe, den Mechanismus der symptomatischen Perniciosaerkrankungen zu erforschen und im Tierversuch nachzuahmen, haben bisher nur zu Fehlschlägen geführt, da für die Entstehung dieser perniciösen Anämien außer der exogenen toxischen Ursache noch eine individuelle konstitutionelle Empfindlichkeit der den intrinsic factor produzierenden Magenzellen oder des

Knochenmarkes angenommen werden muß. Diese Empfindlichkeit haben die sonst für Blutgifte so empfindlichen und daher meist benutzten Kaninchen nie. Versuche mit dem Toxin des Botriocephalus latus, das mit Ölsäure identifiziert werden konnte, führten wie die Versuche mit Colitoxin auf Grund der Seyderhelmschen Beobachtung von der Colibesiedlung der oberen Dünndarmabschnitte bei der Perniciosa des Menschen — eine Folge der Anacidität — zu hypochromen sekundären Anämien, die durch Leber wenig und nur mit riesenhaften Dosen beeinflußbar waren (Gottlebe).[24]) Ein ähnliches Schicksal hatten Experimente, die durch Anlegung künstlicher Dünndarmstenosen bei Hunden eine hyperchrome Anämie erzeugen wollten (Seyderhelm)[25]), wobei hyper- und hypochrome Anämien untereinander und mit gänzlicher Erfolglosigkeit des Eingriffes abwechselten.

Die der 4. Gruppe zugehörigen Testmethoden, die den Einfluß der Leberpräparate auf verschiedene Stoffwechselerscheinungen zur Prüfung auf die antiperniciöse Wirksamkeit der Extrakte benutzen wollten, erwiesen sich als unspezifisch und gaben so niemals Resultate, die mit der klinischen Wirksamkeit der Leberextrakte übereinstimmten. Eine ausführliche Nachuntersuchung von Wilkinson und Deutsch[26]) zeigte, daß auch die von Duesberg beobachtete Beeinflussung der Methämoglobinbildung in einem bestimmten Quantum Blut nach Zusatz von antiperniciosastoffhaltigen Leberextrakten keineswegs parallel mit der klinischen Wirkung dieser Präparate geht.

Die Versuche der 5. Gruppe an hyperchromen, morphologisch perniciosaähnlichen Anämien gehen, abgesehen von den infolge der schweren unspezifischtoxischen Störung durch Leber nicht oder nur unsicher beeinflußbaren Tieranämien nach Phenylhydrazinzufuhr, Bartonelleninfektion (Rominger[27]), Singer[28])) oder Bleisalzvergiftung (Gottlebe)[31]), auf die Erfahrungen Uckos[29]) zurück. Dieser erzielte durch wiederholte intravenöse Saponingaben beim Kaninchen eine hyperchrome Anämie, mit wenigstens makrocytärer Umwandlung der Erythrocyten, Poikilocytose und Anisocytose, Leukopenie, Thrombopenie und Reticulocytopenie. Die Erfahrung, daß sich diese Anämie nach Aufhören der Saponingaben spontan schnell bessert, und daß es nicht gelingt, sie durch Lebergaben zu verhüten oder mit Sicherheit zu bessern (Gottlebe)[30]), machen sie als Test unbrauchbar. Während der letzten zwei Jahre hat Gottlebe in Abwandlung der Versuche Uckos durch Kombination von lange Zeit hindurch gegebenen kleinen Saponindosen mit Kolloidmetallgaben eine konstante, zur qualitativen und quantitaven Eichung der Leberextrakte auf ihren Gehalt an Antiperniciosastoff geeignete Tieranämie erzeugt. Auf die Zuverlässigkeit dieser Testmethode wird im ersten Teil dieser Arbeit an Hand eigener Versuche eingegangen.

Während des letzten Jahres ist schließlich von Wolf, Tschesche und Kröger[31]) eine durch tägliche Verabfolgung von Typhustoxin bei Kaninchen sicher auftretende, teils hypo-, teils hyperchrome Anämie mit Leuko- und Thrombopenie, nur geringer Reticulocytenvermehrung und stark makrocytärer Umwandlung der Erythrocyten beschrieben worden, die auf klinisch wirksame Leberextrakte, und nur auf solche hin, mit Sicherheit mit einer Reticulocytenkrise und einer nachfolgenden Remission des Blutbildes antwortet. Versuche, mit ihrer Hilfe die antiperniciöse Wirksamkeit der Leberteilstoffe Xanthopterin und l-Tyrosin zu prüfen, stellen den zweiten Teil dieser Arbeit dar, während im dritten Teil Versuche mitgeteilt werden, die geeignet erscheinen, die Rolle des hohen Tyrosingehaltes der Leber etwas zu erhellen.

IV. Versuche.

1. Die Brauchbarkeit der Saponin-Elektrocollargolanämie als Test für den Antiperniciosastoff.

Methodik: Nach Gottlebe[32]) werden den möglichst etwa 3 kg schweren grau- bis schwarzhaarigen Kaninchen täglich intravenös Mischspritzen von ca. 0,8 mg/kg Saponin purissimum Merck in $^1/_2$%iger Lösung mit 2,5 ccm 0,06%igem, nach seiner Vorstellung durch Blockade des Reticuloendothelialen Systems eine „Knochenmarkssperre" hervorrufendem Elektrocollargol Heyden verabfolgt. Es sollen nur Tiere mit mindestens 6 000 000 Erythrocyten im cmm Blut als Ausgangswert verwandt werden, da nur ihre Anämien ein für Testversuche genügendes Erythrocytendefizit von 2—2,5 000 000 aufweisen. Der Erythrocytengehalt des Kaninchenblutes soll unter der Spritzenbehandlung innerhalb einer Woche auf 3 000 000 in cmm Blut absinken und dann mit je nach der Empfindlichkeit der Tiere notwendigen weiteren Mischspritzen noch 10—14 Tage unter 3,5 000 000 gehalten werden. Setzt man jetzt mit der Saponin-Elektrocollargolzufuhr aus, so bleibt, nach einem kurzen Anstieg der Erythrocytenwerte um bis zu 1 000 000 roter Blutkörperchen, eine praktisch konstante Restanämie mit 2—3 000 000 Erythrocytendefizit gegenüber dem Ausgangswert bestehen. Erst nach 6—8 Monaten erreichen die Tiere ihre ursprünglichen Blutverhältnisse wieder. In der Zwischenzeit zeigen sie auf Leberextraktinjektion, nicht nach Arsen und Eisen, quantitativ durch die Menge des zugeführten Antiperniciosastoffs bestimmte Erythrocytenvermehrungen.

Wir führten unsere Versuche an 10 den obigen Bedingungen entsprechenden Tieren aus. Da Kaninchen mit mindestens 6 000 000 Erythrocyten Normalwert unter den uns zur Verfügung stehenden Tierrassen (Holländer und Wiener) äußerst selten waren, mußten die Versuche während insgesamt 9 Monaten, von Februar bis Juli und von November bis Januar, durchgeführt werden. Die Erythrocytenzählung erfolgte durch Auszählung 80 kleiner Quadrate in der Neubauerschen Zählkammer bei einer Verdünnung des Blutes von 0,5 : 100.

Ergebnis:

Bei unseren 10 Tieren ließ sich nur an einem die von Gottlebe beschriebene konstante Anämie erzeugen. Sämtliche anderen Tiere reagierten in ganz verschiedener, jedoch nicht in der angegebenen Art. Dabei konnten wir drei Reaktionstypen unterscheiden — ein Zusammenhang mit Jahreszeit, Rasse, Geschlecht oder Alter der Tiere wurde nicht beobachtet.

1. 7 von 10 Tieren waren saponinunempfindlich.

a) Auf die von Gottlebe angegebene Dosierung reagierten die 7 Tiere entweder kaum oder mit einer nur geringen Senkung der Blutkörperchenwerte um 1—2 Millionen in der ersten Woche, um dann einen Wiederanstieg bis zum Ausgangswert noch während der täglich über insgesamt 3 Wochen wiederholten Saponincollargolgaben zu zeigen.

b) Wir verstärkten in der Folge bei 3 von diesen 7 Tieren die ursprünglichen Dosen, wie Gottlebe[33]) später in Mitteilung V zu seiner Anämie auch angibt. Unter täglich steigender Dosierung bis zu 2,4 mg Saponin pro kg Tiergewicht + 2,5 ccm Collargol gelang es mühsam, die Blutwerte auf 4 000 000 Erythrocyten herabzudrücken. Nach der Absetzung der Spritzbehandlung am 23. Tage, wie von Gottlebe zunächst angegeben, erreichten 2 Tiere in 1 bzw. 3 Wochen ihre Ausgangswerte von 6,2 und 6,8 Millionen Erythrocyten wieder. Das dritte Tier starb am 20. Tage, ohne die 4-Millionengrenze unterschritten zu haben, an sich schnell entwickelnder Kachexie.

2. Zwei saponinempfindliche Tiere zeigten keinerlei Neigung zur Konstanz der Anämie.

Diese Tiere ließen sich durch über einen Zeitraum von 6 statt 3 Wochen immer wiederholte Saponincollargolgaben zwar immer wieder auf Blutwerte von 3,5 Millionen Erythrocyten herabdrücken: die Kaninchen erreichten aber binnen längstens 2 Wochen nach endgültigem Aufhören der Spritzbehandlung ihre Norm wieder, unter Spontananstieg der Erythrocytenwerte um 2 bzw. 3 Millionen.

3. An einem einzigen Tier ließ sich bei steigender Saponindosierung nach etwa fünfwöchiger Mischspritzenbehandlung eine konstante Anämie erzeugen, die um 2,7 Millionen niedriger als der Ausgangswert von 6,2 Millionen roter Blutkörperchen im Kubikmillimeter Blut lag. (Vgl. Abb. 1.) Im peripheren Blut dieses letzten Tieres fanden wir die von Gottlebe beschriebene Anämie mit leichter Erhöhung des Färbeindexes, mit Leukopenie, Anisocytose, Poikilocytose und Polychromasie, jedoch Reticulocytenwerte, die mit 20—50 pro Mille leicht erhöht waren (Methodik s. u.).

Um einen weiteren Einblick in den Mechanismus dieser Anämie zu erhalten, untersuchten wir den Zustand der Blutbildungsstätten 6 Tage nach Aufhören der Injektionsbehandlung und nach bereits eingetretener Konstanz der peripheren Blutverhältnisse.

Methodik: Nach dem Vorgehen Wolfs[34]) wird in Morphinrausch und Lokalanästhesie ein etwa 1 cm langes Stück Rippe resiziert, gespalten und zu Tupfpräparaten verwandt, die wie Blutbilder mit May-Grünwald- und mit allerdings auf 20 Minuten verlängerter Giemsafärbung behandelt werden.

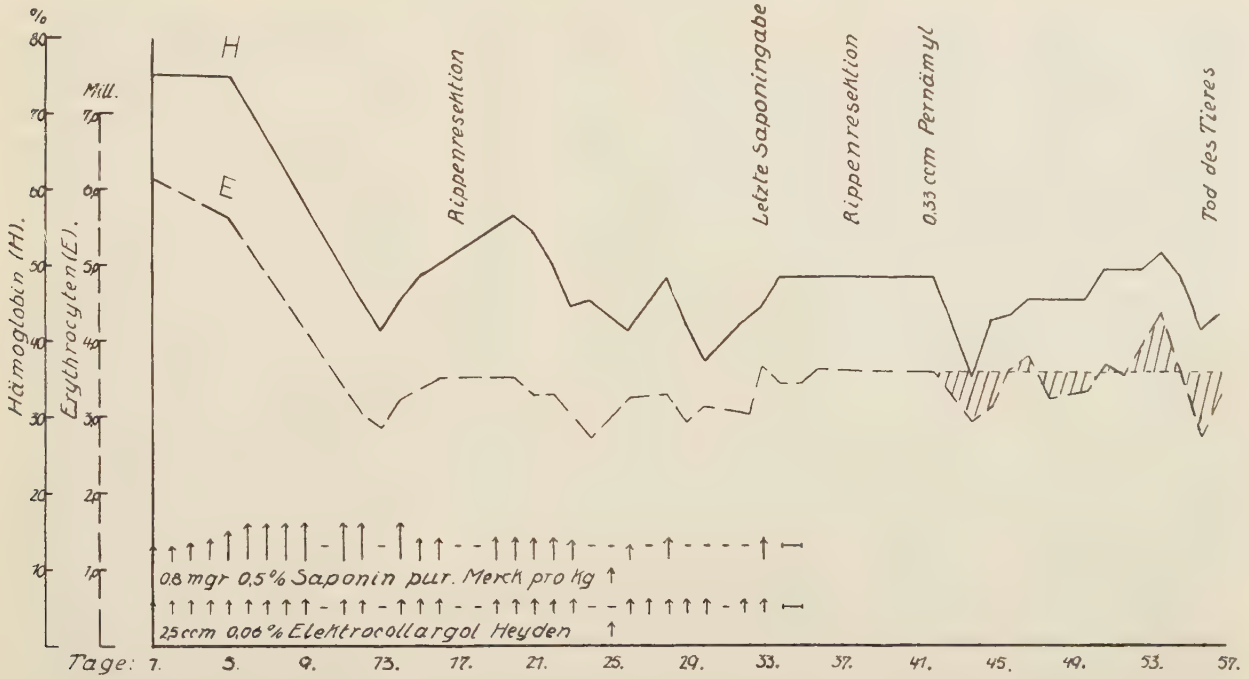

Abb. 1: Verlauf der Elektrocollargol-Saponinanämie bei einem 3-Kg schweren Kaninchen. Einfluss mehrerer Rippenresektionen auf Hämoglobin und Erythrocytenzahl des Blutes. Paradoxe Leberreaktion nach 0,33 ccm Pernämyl simplex subcutan. Schraffiert die der Pernämylgabe folgende Erythrocytenzu- und Abnahme.

Das Ergebnis war insofern überraschend, als das Knochenmark sich, trotz der konstanten Anämie des peripheren Blutes, als vollgepfropft erwies, mit gegenüber der Norm ums Vielfache vermehrten reifen normalgroßen Erythrocytenvorstufen, den Normoblasten, daß also wirklich eine Art Ausschwemmungssperre bei hochaktivem Funktionszustand des Markes besteht, allerdings von gänzlich anderem Charakter, als dem, der bei der perniciösen Anämie vorliegt, deren wesentliches Kennzeichen eine Ausschwemmungs- und Reifungssperre[35]) ist. Im übrigen fiel eine starke Vermehrung der Reticulumzellen, ausgesprochene Basophilie des Plasmas der Erythrocytenvorstufen, wie bei überstürzter Reifung bekannt (Schulten)[36]), eine deutliche Makrocytose und eine Linksverschiebung bei den Leucocyten auf, alles zum Bilde einer Ausschwemmungssperre bei in voller und einwandfreier Tätigkeit befindlichem Knochenmark passend, ohne daß allerdings der Mechanismus vorstellbar ist.

Bevor wir nun an diesem Tier an die Testung des Tyrosin und des Xanthopterin gingen, versuchten wir, nachdem das Blutbild über 10 Tage, 4 Tage nach der letzten Rippenresektion, konstant geblieben war, eine Eichung des Tieres vorzunehmen. Wir injizierten dem Kaninchen i. m. 0,33 ccm Pernämyl simplex, eine mittlere Dosis, die nach Gottlebe[37]) eine sichere Erythrocytenvermehrung um fast 1 000 000 über etwa 6 Tage bedingt. Wie aus Abb. 1 zu ersehen, trat statt des erwarteten Anstieges der Erythrocyten eine sog. paradoxe Leberwirkung auf, wie sie sonst auch im Beginn jeder Leberbehandlung an Perniciosakranken (Duesberg)[38]) und bei Anwendung allerdings außerordentlich großer Leberdosen an gesunden Kaninchen und an Hunden (Adlersberg und Leiner)[39]) als „Leberextrakt-Anämie“ — initialer Abfall der roten Blutkörperchen mit langsamer Remission trotz Weiterverabfolgung höchster Lebermengen — beschrieben worden ist.

Es wird am Schluß der Arbeit darauf eingegangen, daß wir mit dem Leberteilstoff l-Tyrosin das gleiche Phänomen an gesunden Kaninchen erzeugen konnten, so daß jene Erscheinungen vielleicht auf diesen Stoff zurückzuführen sind.

Unser Versuchstier erreichte eine Woche nach der Injektion des Pernämyls die Stufe seiner konstanten Anämie wieder, überschritt diese im Laufe einer weiteren Woche um etwa 1 000 000 und kam dann unter finalem Absturz von etwa 1,5 Millionen zum Exitus, ohne daß die Sektion irgendwelche Blutung nachweisen ließ. Auch am Knochenmark konnte keine wesentliche Änderung der Zellverhältnisse gegenüber den vorher gewonnenen Befunden, etwa im Sinne einer fibrösen Umwandlung des Markes, erhoben werden.

Da zu gleicher Zeit aus der Chirurgischen Klinik der Charité Berlin (Schabbel und Bareuther)[40]) über die Unmöglichkeit, die Saponin-Elektrocollargolanämie als quantitativen Test zu benutzen, berichtet wurde — 0,5 ccm Hepatopson hatten am gleichen Tier eine wesentlich größere Erythrocytenausschwemmung zur Folge als 1,0 ccm des gleichen Präparates —, entschlossen wir uns, bei der Schwierigkeit, geeignete Tiere zu finden, von weiteren Versuchen Abstand zu nehmen.

Zusammenfassung:

1. Die Methodik Gottlebes zur Erzeugung einer konstanten Anämie erwies sich als nicht sicher wirksam:

a) bei 7 von 10 Tieren war selbst unter stärkster Saponin-Überdosierung auch nach langer Zeit keine wesentliche, insbesondere später konstante Anämie zu erzeugen.

b) Von den drei saponinempfindlichen Tieren zeigte nur eins eine konstante Anämie, während die anderen auch nach sechswöchiger Spritzbehandlung schnell und ohne Leberzufuhr zu ihren Ausgangswerten zurückkehrten.

2. Schon die geringe Dosis von 0,3 ccm Pernämyl simplex hatte an dem anämisierten Tier eine paradoxe Leberreaktion mit Exitus des Tieres zur Folge. Eine Knochenmarksuntersuchung an diesem Tier zeigte ein hochaktives Mark voll reifer und halbreifer Normoblasten, so daß bei der konstanten Anämie eine, allerdings von den Verhältnissen bei der echten perniciösen Anämie grundverschiedene Ausschwemmungssperre, wie sie Gottlebe annahm, bestätigt werden kann.

3. Auch von anderer Seite wird die Brauchbarkeit des Testes für quantitative Testversuche nicht bestätigt.

Es war somit unmöglich, die Elektrocollargol-Saponinanämie an unserem Tiermaterial praktisch zu verwirklichen und zu benutzen.

2. Die Wirkung des Xanthopterins und l-Tyrosins auf die experimentelle Typhusanämie des Kaninchens.

Wolf, Tschesche, Kröger und Wolf[13]) haben angegeben, daß durch tägliche Typhustoxingaben beim Kaninchen eine wechselnd hyper- oder hypochrome Anämie entsteht, mit starker Makrocytose (ohne daß es bisher gelungen ist, Megalocyten nachzuweisen), mit sicher über das normale Maß (Klieneberger[41]) hinausgehender Polychromasie, Aniso- und Poikilocytose, mit Leucopenie soweit die Tiere abszeßfrei bleiben, mit Thrombopenie und aller-

dings geringer Reticulocytose von durchschnittlich 10—20‰ und Ausschlägen bis zu 60 auf 1000 rote Blutkörperchen. Bei täglicher Toxinverabfolgung gehen die Tiere unter Progredienz der Anämie innerhalb 3—5 Wochen zugrunde: wird aber gleichzeitig von Beginn an täglich klinisch wirksamer Leberextrakt zusätzlich verabfolgt, so wird die Typhusanämie zwar nicht verhütet, es tritt aber zwischen 5. und 10. Tag eine Thrombocytenkrise, unmittelbar gefolgt von einer 2 bis 4 Tage anhaltenden krisenhaften Vermehrung der Reticulocyten von 10—50‰ auf mindestens 80—250‰ auf. Danach setzt trotz weiterer Toxingaben eine Erholung des Blutbildes und des Allgemeinzustandes ein, so daß die Tiere nicht oder erst viel später und ohne wesentliche Anämie an den von den anämisierenden zu trennenden den Allgemeinzustand schädigenden Toxinen des Typhusgiftes sterben. Die Knochenmarksuntersuchungen Wolfs[42]) zeigen, daß in den Blutbildungsstätten der toxinbehandelten Kaninchen eine schwere Reifungs- und Ausschwemmungssperre besteht, die nach Leberbehandlung normalen Markverhältnissen weicht.

Eine demnächst erscheinende Veröffentlichung Röhrbeins[43]) weist darauf hin, daß es ihm in einzelnen Fällen gelang, mit Arsacetin und Ceferro erhebliche Besserungen der Typhusanämie zu erzielen — jedoch fehlte diesen Befunden die typische Reticulocytenkrise und die Remission war nie von Dauer, noch war sie regelmäßig hervorzurufen: ein Bild, wie es bei der vor 1927 üblichen Arsenbehandlung, wie auch nach Kongorotinjektionen bei der echten Perniciosa bekannt ist.

Wie man sich die Genese der Typhustoxinanämie vorzustellen hat, ist noch unentschieden. Es sind Versuche im Gange, die Frage zu klären, ob es sich um einen toxischen Knochenmarkschaden handelt, oder ob das Typhustoxin wie das Gift der Graviditätsperniciosa (Strauß und Castle)[44]) die Sekretion des intrinsic factor hemmt. Das Aufhören der Salzsäureproduktion, das Verschwinden von Lab und Pepsin aus dem Magensaft der Kaninchen in Spätstadien der Anämie scheinen auf diese Möglichkeit hinzuweisen, zumal das Knochenmark an sich produktionskräftig bleibt, wie die bei Abszeßbildung an den Versuchstieren beobachteten Leucocytosen von 16 000—24 000 weißer Blutkörperchen im Kubikmillimeter Blut beweisen. Fest steht bisher nur, daß die Thrombo- bzw. Reticulocytenkrise mit anschließender Dauerremission des Blutbildes trotz weiterer Typhustoxingaben mit Sicherheit nur mit klinisch wirksamen Leberextrakten erzielt werden konnte, daß also die Typhustoxinanämie der echten Perniciosa wenigstens funktionell gleicht, eine Tatsache, die sie zur Trennung der antianämischen Leberfaktoren vom Antiperniciosastoff geeignet erscheinen läßt.

Methodik: Die Tiere erhalten von dem nach Wolf, Weber und Kröger[13]) hergestellten Typhustoxin subcutan täglich ca. 2 ccm pro kg Körpergewicht. Es werden unter Verzicht auf Kontrolle der übrigen Blutveränderungen täglich zu gleicher Tageszeit Reticulocytenzählungen und 2—8tägige Kontrollen der übrigen Blutwerte vorgenommen. Die Hämoglobinwerte wurden nach Sahli bestimmt, die Erythrocyten und Leukocyten in der Neubauerschen Zählkammer in Verdünnungen von 0,5 : 100 bzw. : 10 durch Auszählen 80 kleiner bzw. 64 großer Quadrate gezählt. Zur Bestimmung der Reticulocytenwerte wurde nach Wolf ein Blutstropfen aus der Ohrvene des Kaninchens auf einem Objektträger mit etwa der gleichen Menge 1%iger Brillantkresylblaulösung (in 0,8%iger Kochsalzlösung) vermischt und das Gemisch sofort ausgestrichen, worauf der Objektträger für etwa 20 Minuten in eine feuchte Kammer kommt. Nach anschließender vollkommener Trocknung wird das Präparat mit May-Grünwald nachgefärbt, sodann mit Ölimmersion und Zählokular die Anzahl Reticulocyten unter 1000 durchgezählten Erythrocyten festgestellt.

Ergebnisse:

a) Kontrollversuche mit Typhustoxingaben: praemortale Reticuloctytenkrise.

Das immer wiederholbare, von Wolf[13]) ausführlich beschriebene Bild der Typhustoxinanämie zeigt Abb. 2: Wichtig war für uns, daß während der ersten drei Wochen, solange die Anämie nicht Tiefstwerte erreicht hat, niemals eine Steigerung der Reticulocyten auf mehr als vorübergehend höchstens $60^0/_{00}$ auftritt. Bei der Durchsicht der Protokolle fiel auf, daß dagegen im Finalstadium bei besonders hochgradiger Anämie häufig eine starke, excessive Werte von 300 pro Mille erreichende Vermehrung der vitalfärbbaren jugendlichen Erythrocyten zu beobachten ist, eine Erscheinung, die auch bei der Biermerschen Anämie als praemortale Blutkrise" (Naegeli[45], Schilling[46]) beschrieben ist. Da diese Erscheinung an unseren Tieren nur bei Anämien unter 1,6 Millionen Erythrocyten im Kubikmillimeter Blut beobachtet wurde, muß man nach Naegeli annehmen, daß es ein übergroßer, durch die excessive Anämie bedingter Reiz ist, der diese finalen Reticulocytenausschwemmungen zustande bringt. Daß es sich um eine echte und nicht nur relative Vermehrung der jugendlichen Erythrocytenformen handelt, lassen Berechnungen der absoluten Reticulocytenzahl in diesem Stadium erkennen: ihre Zahl steigt innerhalb 48 Stunden von 150 000 auf ca. 300 000—400 000 im ccm Blut.

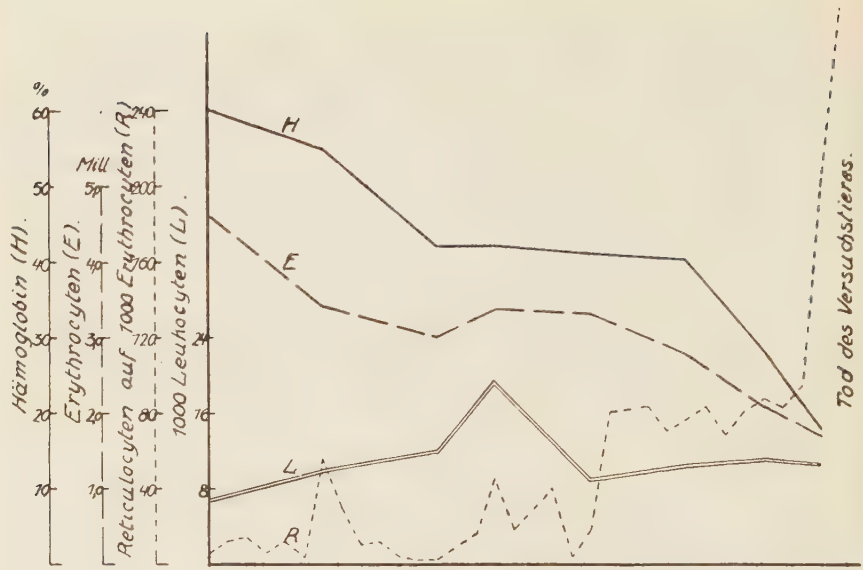

Abb 2: Typischer Verlauf der unbehandelten Typhustoxin-anämie beim Kaninchen bei täglichen Gaben von 20 ccm Typhustoxin 1:20 pro kg subcutan. Ab 24. Tag „praemortale Reticulocytenkrise".

b) Die Wirkung des Xanthopterins auf die Typhusanämie.

Mir standen insgesamt 45 mg des schwer zugänglichen Xanthopterins zur Verfügung. Von der gelben unter Lichtabschluß aufbewahrten Trockensubstanz wurde nach Bedarf eine 0,1%ige schwach opale Lösung in 3%igem Natriumbikarbonat hergestellt und diese in der Dunkelflasche im Eisschrank aufbewahrt.

Um eine Identität des Xanthopterins mit den in der Leber reichlich vorhandenen blutdruckwirksamen Substanzen auszuschließen, wurde, bevor wir den Stoff unseren Tieren täglich intravenös zuführten, ein Kreislaufbelastungsversuch vorgenommen. In üblicher Versuchsanordnung, Kaninchen in Pernoctonnarkose, Blutdruckmessung in der Carotis communis und Applikation des Xanthopterins durch eine Dauer-

kanüle in die Vena jugularis, ließ sich auch bei höchsten Dosen von 800 Gamma in 4 ccm 3%igem Natriumbikarbonat bei dem 2,2 kg schweren Tier kein die ganz leicht depressorische Wirkung gleicher Menge 0,9%iger Kochsalzlösung überschreitender Effekt feststellen. Wir spritzten deshalb das Xanthopterin in der Folge in die Ohrvenen der Kaninchen.

Nach Jacobson[5]) lassen sich aus 100 g frischer Leber 11 mg Xanthopterin gewinnen. Nimmt man an, daß dieser Leberteilstoff vollständig bei der Herstellung des Pernaemyls erfaßt wird, so wären, da 0,05 ccm Pernämyl simplex pro kg Körpergewicht der Tiere für eine Heilung der Typhusanämie notwendig ist, ca. 650 Gamma pro kg Tiergewicht zu verabfolgen. Da nun eine quantitative Gehaltsbestimmung des Pernämyls und der übrigen Leberpräparate auf Xanthopterin noch nicht vorliegt, berücksichtigten wir bei der Wahl der Dosierung die Erfahrungen von Wolf[8]) an der wachsenden ziegenmilchanämischen Ratte. Er fand optimale Wirkungen schon bei Dosierungen von 50—125 Gamma pro kg Körpergewicht, weshalb wir bei der Kostbarkeit des Materials neben dem Typhustoxin täglich drei Versuchstieren nur je 93, 166 und 300 Gamma Xanthopterin pro kg zugeführt haben.

Die Ergebnisse (s. Tabelle 1) waren völlig eintönig: bis zum 18. Tag hatte sich bei sämtlichen drei Tieren eine erhebliche Anämie ohne jedes Zeichen einer eintretenden Besserung herausgebildet. Da sich eine Heilwirkung der zu testenden Stoffe niemals erst nach dieser Zeit zeigt (s. S. 18), wurden die Versuche wegen der schon oben betonten Materialknappheit nicht bis zum Tode der Versuchstiere durchgeführt.

Tabelle 1.

Tier Nr.	Typhustox pro kg	Xanthopt. pro kg	Ausgangs-blutwert in Mill. Erythr.	Anämie am 18. T.	Reticulo-cyten Höchstw.
28	2,0 ccm	93 γ	5,5	3,0	33‰
2	2,0 ccm	166 γ	5,2	3,4	16‰
71	2,0 ccm	300 γ	5,4	3,6	38‰

Unter der Annahme, daß wir mit 300 Gamma Xanthopterin nicht unterschwellig dosiert haben, ist demnach eine Wirkung des Xanthopterins auf das Typhustoxingesperrte Knochenmark nicht festzustellen.

c) die Wirkung des l-Tyrosins auf die Typhusanämie.

Zur Verwendung kam l-Tyrosin Kahlbaum, wie es von den Amerikanern ebenfalls verwandt worden ist (Subbarow[5]). Es wurden 1%ige Suspensionen in 3%igem Natriumbikarbonat in jeweils 3—4tägigen Abständen frisch hergestellt und die Dosen nach ca. 3minutigem Schütteln der Suspension den Tieren subcutan injiziert. Abszeßbildung wurde nie beobachtet.

Auch hier war trotz hoher Dosierung meist keine Besserung der Typhusanämie zu erzielen. Eine Lebensverlängerung konnte ebenfalls nicht erreicht werden. Vielmehr gingen die Tiere in der 4. und 5. Woche durchweg zugrunde. Dabei zeigte sich aber an einzelnen Tieren eine gewaltige Reticulocytenkrise mit folgender erheblicher Remission der Anämie, also eine Durchbrechung der Typhusknochenmarksperre: da jedoch in der Größenordnung der zuvor erreichten Anämie und der bei der Krise ereichten absoluten Reticulocytenzahl eine vollkommene Ähnlichkeit mit den Zahlen der oben beschriebenen prämortalen Krise unserer Kaninchen festzustellen ist, kann dieser Erfolg nicht sicher auf eine Knochenmarksreizwirkung des Tyrosins zurückgeführt werden, sondern ist möglicherweise als eine durch die hochgradige rasch einsetzende Anämie ausgelöste und damit der prämortalen Krise ähnliche Erscheinung anzusehen: eine genaue Darstellung der Ergebnisse findet sich im dritten Teil der Versuchsergebnisse.

d) Die Wirkung kombinierter Xanthopterin- und Tyrosingaben.

Bei der Vereinigung der Xanthopterinlösung mit der l-Tyrosinaufschwemmung fiel auf, daß sich das Tyrosin in der ersteren Lösung in der erstaunlichen Konzentration von 0,4% glatt löst, was auf enge Beziehungen der beiden Stoffe zueinander hinzuweisen scheint. Trotzdem war an einem Versuchstier trotz täglicher Gaben von 300 Gamma Xanthopterin und 10 mgr l-Tyrosin, also einer sicher überschwelligen Dosis, keine Wirkung auf die Typhusanämie erzielbar.

Weiteren Untersuchungen bleibt es noch vorbehalten, erstens zu beweisen, daß die Typhustoxinanämie des Kaninchens wirklich funktionell völlig perniciosagleich ist, zweitens, festzustellen, ob wir beim Xanthopterin ausreichend dosiert haben, und drittens, zu untersuchen, ob nicht Xanthopterin und l-Tyrosin in der Leber in einer besonderen Verbindung miteinander und mit dritten Stoffen, etwa dem Polypeptid Jacobsons, stehen, deren Wiederaufbau nach chemischer Trennung in die Grundstoffe dem Körper nicht wieder möglich ist, und deren Ge-

samtheit erst die Wirkung des Antiperniciosastoffes zu entfalten vermag. Unter Berücksichtigung dieser Einschränkungen müssen wir vorerst die Identität der untersuchten Stoffe mit dem Antiperniciosastoff ablehnen.

3. Die Rolle des hohen l-Tyrosingehaltes der Leber.

Jacobson[5]) fand in 100 g frischer Leber die enorme Menge von 3 mg Tyrosin. Unter Berücksichtigung dieser Zahl wäre unseren Versuchstieren bei den gegen das Typhustoxin als wirksam gefundenen Dosen von 0,05—5 ccm Pernämyl simplex pro kg Tiergewicht eine tägliche Menge von 0,15—15,0 mg Tyrosin mit zugeführt worden, vorausgesetzt, daß die Leberexttrakte prozentuell gleiche Tyrosinmengen enthalten. Entsprechend probierten wir die Wirkung täglicher Mengen von 6,5, 10,5 und 13,0 mg Tyrosin pro kg Körpergewicht der Tiere auf den Verlauf der Typhusanämie aus (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2.

Tier Nr.	Typhustox. pro kg	Tyrosin pro kg	Ausgangs-blutwert in Mill. Ery.	Blutw. 12. Tag	Blutw. beim Exitus	Reticulocytenkrise	Exitus
102	2,0 ccm	—	2,6	3,1	1,7	praemortal 300‰	36. Tag
150	2,0 ccm	2,0 ccm Pern. forte	5,0	3,71	5,34	10. Tag 160‰	lebt länger als 40 Tage
106	2,0 ccm	10,0 mg	6,2	4,6	1,8	—	36. Tag
19	2,0 ccm	13,0 mg	4,8	1,3	3,2	12. Tag 190‰	38. Tag
70	2,0 ccm	13,0 mg	5,8	1,36	2,54	12. Tag 210‰	22. Tag

102 = unbehandeltes Typhustier.
150 = mit 2 ccm Pernämyl forte behandeltes Typhustier.
106, 19 und 70 = mit Tyrosin behandelte Typhustiere.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß sich ein Tier mit täglicher Zulage von 10 mg Tyrosin nicht von dem gleichzeitig mitlaufenden Typhuskontrolltier (102) unterschied, daß aber die 2 anderen Tiere, denen 13 mg Tyrosin verabfolgt wurden, in wesentlichen Punkten sowohl vom Verhalten des mit Typhustoxin, wie des mit Typhustoxin und Leber behandelten Tieres abwichen: (19) und (70) hatten am 12. Tag

eine sonst nie beobachtete tiefe Anämie von 1,3 und 1,36 Millionen Erythrocyten, zeigten jetzt einie starke Reticulocytenkrise von 190 bzw. 210 pro Mille, stiegen mit ihren Blutkörperchenwerten wieder auf 3,2 bzw. 2,54 Millionen an und starben am 38. bzw. 22. Tag kachektisch.

Die schon am 12. Tag beobachtete ungewöhnlich tiefe Anämie ließ uns am Vorliegen einer echten Leberremission zweifeln. Vor allem war daran zu denken, daß die tiefe Anämie als solche zu der Reticulocytenkrise Anlaß gegeben hatte. Da nun eine völlige Übereinstimmung in der Größenordnung der Anämie vor Eintritt der Reticulocytenkrise und der Anämie beim Auftreten der oben beschriebenen prämortalen Krisen bestand, und auch die absoluten Zahlen der ausgeschwemmten Reticulocyten sich in beiden Fällen glichen, war es sehr möglich, daß eine Erscheinung nach Art der prämortalen Krise vorlag, die wegen des Wegfalls irgendeines den Tieren bis zum 12. Tag zugefügten zusätzlichen Schadens, nicht vom Tod der Versuchstiere gefolgt war. Aus dem gleichen Grunde konnte eine Remission des Blutbildes auf jene Werte einsetzen, die bei alleiniger Verabfolgung von Typhustoxin erreicht worden wäre, worauf es zum Typhustod der Tiere kam. Da in der Literatur bereits Angaben über die anämisierende Wirkung großer Tyrosingaben am Meerschweinchen (V o l t e r r a usw.)[47]) vorliegen, wurde nun dessen Wirkung auf das gesunde Kaninchen untersucht. (s. Tabelle 3.)

T a b e l l e 3.

Tier Nr.	Tyrosin pro kg	Ausgangs-blutwert in Mill. Erythrocyt.	Anämie am 12. T.	Anämie am 20. T.	Reticulo-cyten-steigerung
104	6,5 mg	5,3	4,3	5,3	41‰
86	13 „	4,5	2,8	4,3	142‰
116	13 „	5,6	4,2	5,0	—
118	13 „	5,21	4,15	5,0	—
119	13 „	5,33	4,02	5,09	—
113	10 „	5,2	4,9	5,05	18‰
111	13 „	5,1	4,8	4,8	—

104, 86 = stark tyrosinempfindliche Tiere.
116, 118, 119 = schwach tyrosinempfindliche Tiere.
111, 113 = tyrosinresistente Tiere.

Unter den 7 nur mit parenteralen Tyrosingaben behandelten Versuchstieren blieben zwar 2 (113, 111) völlig unbeeinflußt; 3 zeigten aber eine deutliche, sich nach 12—14 Tagen trotz weiterer Tyrosin-

gaben ohne Reticulocytenkrise bessernde Anämie, und 2 waren besonders empfindlich und erfuhren Erythrocytensenkungen um 1,5 bei geringer, bzw. 1,7 Millionen bei hoher Dosierung (104, 86), wobei die Besserung beim stärker anämischen Tier am 12. Tag mit einer erheblichen Reticulocytenkrise von 142 pro Mille einsetzte. Dabei konnten wir nicht entscheiden, ob Unterschiede in den Resorptionsbedingungen des subcutan applizierten Tyrosins oder in der konstitutionellen Tyrosin-Empfindlichkeit der Tiere die Ursache des wechselnden Ausfalls der Reaktion war.

Da sich trotz Weiterverabfolgung von Tyrosin der Blutstatus aller Tiere wieder normalisierte und normal blieb, gaben wir, in der Annahme, daß sich, nunmehrige Wirkungslosigkeit des Tyrosins vorausgesetzt, nur noch eine reine Typhusanämie zeigen müsse, den beiden empfindlichsten Tieren nach erfolgter Reparation des Blutbildes täglich zum Tyrosin 2,0 ccm Typhustoxin pro kg. Der Verlauf der nun einsetzenden Anämien an diesen Tieren glich wirklich völlig dem an von vornherein tyrosinresistenten Tieren bzw. dem an nur mit Typhustoxin behandelten Kaninchen. (Siehe Tabelle 4.)

Tabelle 4.

Tier Nr.	Typhustox. pro kg	Tyrosin pro kg	Ausgangs-blutwert in Mill. Erythroc.	Blutw. 12. Tag	Blutw. beim Exitus	Reticulo-cyten-krise	Exitus
106	2,0 ccm	10,0 mg	6,2	4,6	1,8	—	36. Tag
104	2,0 „	6,5 „	5,3	3,9	0,7	praemortal 290 ‰	29. Tag
86	2,0 „	13 „	4,5	3,6	2,2	—	28. Tag

106 = tyrosinresistentes Typhustier
104, 86 = nach Tyrosinvorbehandlung tyrosinresistente Tiere.

Bei einem Versuch über den Charakter der Tyrosinanämie durch gleichzeitige Knochenmarksuntersuchungen weitere Kenntnisse zu erhalten, fiel schon wenige Tage nach Beginn der Tyrosingaben eine bisher nie gesehene erstaunliche Eosinophilie in den Blutbildungsstätten auf: das Knochenmark zeigte eine starke Vermehrung der Leucocyten, wobei fast 80 % derselben der eosinophilen Reihe zugehörten. Möglicherweise ist die Ursache der Anämie in einer zeitweiligen Verdrängung des erythroblastischen Knochenmarksgewebes durch die eosinophilen Zellen zu suchen — ähnlich den Verhältnissen bei den leukämischen Anämien. Der Einwand, daß voraufgegangene

Rippenresektionen zur Bestimmung des normalen Ausgangsbefundes durch dabei unvermeidliche, beim Abschieben der Pleura von der Rippe gesetzte Pleura- und damit Vagusreize, die Ursache der Eosinophilie sein könnten, fällt, wenn man bedenkt, daß wir ein unseren Befunden an tyrosinbehandelten Tieren gleiches Bild bei keiner der etwa 50 vorgenommenen, meist mehrfach wiederholten Rippenentfernungen gefunden haben.

Dieser Befunde wegen untersuchten wir in einer letzten Versuchsreihe noch die nach Tyrosingaben auftretenden Änderungen der Leucocytenverhältnisse im peripheren Blut dreier Kaninchen:

Anm.: Bei der Schwierigkeit, die echten Eosinophilen von den die Hauptmasse der Kaninchenleucocyten ausmachenden Pseudoeosinophilen zu trennen, wandten wir nach Klieneberger[48]) eine reine Giemsafärbung an, bei der die echten Eosinophilen wunderschöne große, dunkelrote Granula enthalten, während sich die Pseudoeosinophilen nicht färben.

Zwei Tiere zeigten bei geringer Zunahme der absoluten Leucocytenzahl von etwa 7000 auf 11 000 im Kubikmillimeter Blut auch ein relatives Ansteigen der Eosinophilen von sonst durchschnittlich 1—4 auf 10—12 % am 6.—12. Tag nach Beginn der Tyrosingaben, mit anschließend allmählicher Rückkehr zur Norm. Ein Tier reagierte nicht mit Erscheinungen im peripheren Blut.

Trotz der wenigen Versuche erscheint uns dies Ergebnis mitteilungswert, da auch hier Parallelen zur Lebertherapie vorhanden sind: Markert[49]) und Hoffmann[70]) weisen auf im Beginn erfolgreicher Leberbehandlung beim Perniciosakranken explosiv auftretende Eosinophilien hin. Es erscheint auch hier nicht ausgeschlossen, daß das Tyrosin mit diesem Vorgang ursächlich zu tun hat.

Nach unseren Erfahrungen übt also das parenteral zugeführte l-Tyrosin keine mit der Heilwirkung des Antiperniciosastoffes identische Knochenmarksreizwirkung aus. Das Tyrosin hat dagegen eine individuell in der Stärke schwankende vorübergehend anämisierende Wirkung beim Kaninchen. Ein Vergleich der Größenordnung der dazu notwendigen Tyrosinmengen (13 mg) mit den für die Erzeugung der Leberextraktanämie von Adlersberg angegebenen Leberquanten (entsprechend 15 mg Tyrosin) drängt unwillkürlich den Gedanken auf, daß das l-Tyrosin beim Zustandekommen dieser Anämie eine bedeutsame Rolle spielt, zumal nach Volterra[47]) die anderen Aminosäuren der Leber eine solch anämisierende Wirkung nicht zeigen. Es ist auch möglich, daß das initiale Absinken der Erythrocytenwerte bei Beginn der Lebertherapie am Perniciosakranken (Duesberg[38]) mit

dem hohen Tyrosingehalt der Leber zusammenhängt, ein Gedanke, der bei der künftigen Reinigung der Leberpräparate berücksichtigt werden könnte, falls sich das l-Tyrosin nicht noch irgendwie als für eine optimale Wirkung der Leberpräparate notwendig erweisen sollte. Das l-Tyrosin hat weiter vielleicht Beziehungen zu den im Beginn erfolgreicher Lebertherapie beobachteten Eosinophilien.

V. Zusammenfassung.

1. Es war unmöglich, den Saponin-Elektrocollargoltest Gottlebes an unserem Tiermaterial mit der praktisch notwendigen Sicherheit zu reproduzieren. Die Verwendbarkeit dieser Anämie als quantitativer Test für den Antiperniciosastoff konnte nicht bestätigt werden. Der Mechanismus der durch die Saponin-Elektrocollargolgaben bedingten Ausschwemmungssperre ist nach unseren Knochenmarksuntersuchungen völlig wesensverschieden von dem der echten perniciösen Anämie.

2. Bei hochgradiger Anämie mit weniger als 1,6 Millionen Erythrocyten im Kubikmillimeter Blut tritt bei der Typhusanämie des Kaninchens eine spontane Reticulocytenkrise dicht vor dem Tod des Versuchstieres auf — diese Erscheinung wird mit der praemortalen Blutkrise, die bei der menschlichen Perniciosa beobachtet wird, verglichen.

3. Der Leberextraktstoff Xanthopterin ist auch bei intravenöser Zufuhr am Kaninchen nicht blutdruckwirksam.

4. Die Leberextraktstoffe Xanthopterin und l-Tyrosin (in mittleren Dosen, 6,5—13 mg pro kg) erwiesen sich einzeln und kombiniert an der experimentellen Typhusanämie des Kaninchens im Gegensatz zu allen klinisch wirksamen Leberpräparaten als wirkungslos. Die Dosierung des Xanthopterin lag zwischen der nach Leberanalysen berechneten und der am Ziegenmilchanämietest wachsender Ratten wirksamen Menge.

5. Große Tyrosingaben hatten an normalen Kaninchen in 5 von 7 Fällen eine deutliche vorübergehend anämisierende Wirkung. Sie erzeugten weiter eine enorme Eosinophilie im Knochenmark und weiter eine deutliche Eosinophilie im Blut der gleichen Tiere. Es werden Beziehungen zu den gleichen Beobachtungen kurz nach Beginn der Lebertherapie bei der menschlichen Perniciosa vermutet.

6. Bei Behandlung der Typhustoxinkaninchen mit sehr hohen Tyrosindosen (13 mg pro kg) sahen wir besonders rasch einsetzende Anämien, die nach typischer Reticulocytenkrise deutliche Reparationen im Blutbild zeigten. Eine Erklärung für dieses Verhalten könnte in der anämisierenden Wirkung hoher Tyrosindosen gefunden werden, die im Verein mit dem Typhustoxin so starke Anämien hervorruft, daß ein Mechanismus ausgelöst wird, der wahrscheinlich mit dem der praemortalen Reticulocytenkrise verglichen werden kann.

Schrifttumsverzeichnis

1. Ungley, Moffelt: Lancet 1936 I, 1232—1235.
2. Stare und Thompson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 33, 64—65. (1935.)
3. Ashford und Klein: Bioch. J. 30, 218—223 (1936).
4. Tochowicz: Fol. Hämat. 56. 240—248 (1936).
5. Subbarow und Jacobson: New England Journal of Medicine 1935, S. 663.
6. Koschara: Z. f. physiol. Chemie Bd. 240, S. 127 (1936).
7. — Z. f. physiol. Chemie Bd. 250, S. 161 (1937).
8. Wolf und Tschesche: Z. f. physiol. Chemie Bd. 244, S. 34 (1936).
9. Kramer: Inaug. Diss. Göttingen 1937.
10. Grenningloh: Inaug.Diss. Göttingen 1938.
11. Jacobs: J. Labor. a. clin. Med. 22, 890—892. (1937.)
12. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 180, S. 354 ff.
13. Wolf, Weber, Kröger: Med. Welt 1937 II, Nr. 34, und mit Tschesche u. Wolf: Arch. f. exper. Path. Bd. 188, S. 423 ff.
14. Singer: Klin. Wschr. 1935, 200.
15. Mermod, J. clin. Invest. 15, 559—569, (1936).
16. Lendvai: Klin. Wschr. 1936 II, S. 1034—1036.
17. Hummel: Proc. soc. exper. Biol. a. Med. 36, 657—661 (1937).
18. Bachrach und Fogelson: J. Labor. a. clin. Med. 22, 925—934 (1937).
19. Singer: Klin. Wschr. 35 I, S. 202.
20. Crosetti und Bajardi: Arch. ital. Mal. Appar. Diger. 5, 296—302 (1936).
21. v. Boros: Ergebnisse der inneren Medizin. Bd. 42, S. 679 (1932).
22. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 180, S. 355.
23. Rominger-Bomskov: Zschr. f. exper. Medizin. Bd. 89, S. 786, 818, (1933).
24. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 180, S. 356, 358.
25. Seyderhelm: Vergl. Singer, Erg. d. Inn. Med. Bd. 47, S. 496.
26. Wilkinson und Deutsch: Klin. Wschr. 1935 I, S. 926.
27. Singer: Ergebnisse der inneren Medizin. Bd. 47, S. 492.
28. Rominger und Bomskov: Zschr. f. klin. Medizin. Bd. 89, S. 819.
29. Ucko: Zschr. f. klin. Medizin. Bd. 117, S. 1, Bd. 118, S. 221.
30. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 180, 369.
31. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 180, 359.
32. — Arch. f. exper. Path. Bd. 180, 363.
33. — Arch. f. exper. Path. Bd. 185, 358.
34. Wolf: Arch. f. exper. Path. Bd. 188, S. 426.
35. Singer: Erg. d. inn. Medizin. Bd. 47, S. 465.
36. Schulten: Sternalpunktion, Leipzig 1937, Tafel I.
37. Gottlebe: Arch. f. exper. Path. Bd. 182, S. 95.
38. Duesberg: Dtsch. med. Wschr. 1930 II, 1604.
39. Adlersberg und Leiner:, Zschr. f. exper. Med. Bd. 98, S. 398.

40. Schabbel und Bareuther: Dtsch. med. Wschr. 1938 I, S. 80.
41. Klieneberger: Blutmorphologie d. Labor. Tiere. Leipzig 1927, S. 43.
42. Wolf, Arch. p. exper. Path. Bd. 188, S. 429.
43. Röhrbein: Inaug. Diss. erscheint demnächst in Göttingen.
44. Strauß und Castle: Vergleiche b. Singer Ergebn. d. inn. Med. Bd. 47, S. 526.
45. Nägeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Berlin 1931, S. 112, 219, 288.
46. Schilling: Das Blutbild u. seine diagnostische Bedeutung. Jena 1933
47. Volterra, Mario, Ciaranfi: Sperimentale 88, S. 694—717 (1934).
48. Klieneberger: siehe Nr. 41, S. 44.
49. Markert: Sang. 9, 57—63 (1935).
50. Hoffmann: Klinische Wschr. 1936 I, S. 598.

Lebenslauf

Ich wurde am 29. November 1912 als Sohn des 1914 gefallenen Privatdozenten der Pharmakologie, Prof. Dr. Oswald Loeb und seiner Ehefrau Helene geb. Böker zu Göttingen geboren.

Von 1922 bis 1931 besuchte ich das Vitzthumsche Gymnasium zu Dresden. Nachdem ich an dieser Schule Ostern 1931 die Reifeprüfung bestanden hatte, begann ich das Medizinstudium an der Universität in Graz, studierte später in Innsbruck, München, Göttingen, Freiburg i. Br. und wieder Göttingen, wo ich 1933 das Physikum, 1936 das Staatsexamen sehr gut bestand.

Vom 1. Januar 1937 bis zum 28. Februar 1938 war ich als Medizinalpraktikant an der Medizinischen und an der Chirurgischen Universitätsklinik zu Göttingen beschäftigt.